

**Die proteolytische Aktivität von normalem
und pathologischem Hornmaterial,
im besonderen der psoriatischen Schuppen
und des Komedos bei Akne vulgaris.**

Ursula Blomeyer

1964

Aus der Universitäts-Hautklinik Frankfurt a. M.

Direktor : Prof. Dr. med. F. Herrmann

DIE PROTEOLYTISCHE AKTIVITÄT VON NORMALEM UND PATHOLOGIS-
GISCHEM HORNMATERIAL, IM BESONDEREN DER PSORIATISCHEN
SCHUPPEN UND DES KOMEDOS BEI AKNE VULGARIS

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

der Zahnmedizin

der hohen Medizinischen Fakultät

der Johann Wolfgang Goethe-Universität

zur Frankfurt am Main

vorgelegt von

Ursula Blomeyer

aus Kukehnen/Ostpr.

Frankfurt/Main 1963

Dekan : Prof. Dr. J. Frey
Referent : Prof. Dr. G. K. Steigleder
Korreferent : Prof. Dr. Frick
Mündliche Prüfung : 19. März 1964



PROBLEMSTELLUNG :

In der vorliegenden Studie wird geprüft, inwieweit normales und krankhaftes Hornmaterial in der Lage ist, Gelatine zu verdauen.

Untersucht wurde Material, das von der Hautoberfläche hautgesunder Versuchspersonen abgeschabt wurde : Schuppen, Haare, Nagelmaterial und Schuppen der Kopfhaut und Schuppen bei Hautveränderungen, im besonderen bei Psoriasis, schließlich Komedonen von Versuchspersonen ohne nachweisbare Hautveränderungen, bei Akne vulgaris und bei anderen Hautveränderungen.

Einleitung :

Frühere Befunde wiesen darauf hin, daß im Vergleich zur normalen Hornschicht eine verstärkte proteolytische Aktivität (im folgenden als p. Akt. abgekürzt) in der psoriatischen Schuppe vorhanden ist (6, 10, 11). Bei den vorausgegangenen Untersuchungen wurde die Aufspaltung eines relativ einfachen Substrates, nämlich des L-Leucyl- β -Naphthylamids durch Hautschnitte bzw. durch die normale und krankhafte Hautoberfläche geprüft.

Obwohl dieses Verfahren in der Biochemie und Histochemie weithin angewandt und anerkannt wird, werden im Grunde nur Substanzen nachgewiesen, die in der Lage sind, das angebotene künstliche Produkt zu spalten (4, 5, 8, 14).

Ferner hatten Untersuchungen am Nervengewebe ergeben, daß manche proteolytischen Enzyme bei Inkubation mit dem künstlichen Substrat nicht erfaßt werden (1). Es war deshalb naheliegend, die p. Akt. mit einem andersartigen Verfahren zu lokalisieren.

METHODE :

Wir gingen nach dem Verfahren von C. W. Adams und N. A. Tuquan (2) vor.

Das Prinzip dieser Methode ist das Folgende :

Wird die Gelatine auf einer lichtexponierten und entwickelten also schwarzen photographischen Platte verdaut, fallen die schwarzen Silbergranula aus, der Schwund der Gelatine ist leicht erkenntlich.

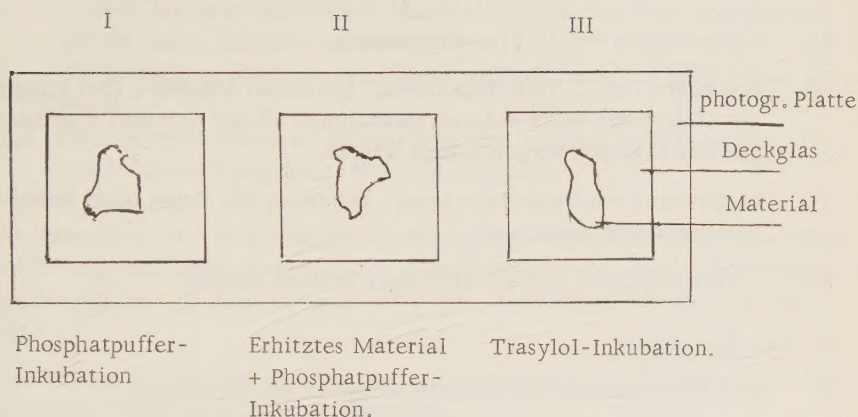
Wir benutzten höchst empfindliche panchromatische Universalplatten von Perutz (19 DIN 64 Exp.).

Diese 9 x 12 cm großen Platten wurden in kleinere Stücke von Objektträgergröße zugeschnitten. Diese kleinen Platten wurden in 3 Felder geteilt und das zu untersuchende Material auf eines der Felder gebracht, mit Deckglas abgedeckt und bei 37° C für 24 Stunden in einer wassergesättigten Atmosphäre inkubiert. Der Rand der Deckgläser wurde vorsichtig mit 0.15 M Phosphatpufferlösung nach Sørensen (pH 7,4) angefeuchtet und so das Material in einem feuchten Milieu von bestimmtem pH-Wert gehalten. Auf dem ersten Feld wurde frisch gewonnenes Hornmaterial, auf dem zweiten Feld Material, das vorher 1 Stunde bei 80° C, in Ausnahmefällen bei 120° C gehalten wurde, in Phosphatpuffer inkubiert, auf dem dritten Felde dagegen Material mit dem Kallikrein-Trypsin-Inaktivator (R) von Bayer (7, 13) bebrütet.

Die Felder waren im Vergleich zu den Deckgläsern und zu dem Material so groß gewählt, daß eine gegenseitige Beeinflussung ausgeschlossen erschien.

ZEICHNUNG :

Feld :



Nach der Inkubation wurde die Wirkung des Materials auf dem Gelatinefilm mit dem bloßen Auge, unter dem Mikroskop und unter dem Phasenkontrastmikroskop untersucht.

Als Kontrollen wurden :

- I. Hautschnitte in der gleichen Weise inkubiert,
- II. an den gleichen Patienten eine Hautoberflächeninkubation durchgeführt (Auswertung s. Steigleder und Endres 11),
- III. Längsschnitte von den Komedonen mit dem Kryostat (System Dittes-Duspiva) angefertigt und mit Toluidinblau (pH 7, 2) und Sudan-scharz B nach Lison (Romeis 9, § 1050) gefärbt. Außerdem wurden diese Schnitte in polarisiertem Licht untersucht.

Mit oben geschilderter Methodik untersuchten wir folgendes Material :

MATERIAL :

A: Von Versuchspersonen ohne Dermatosen.

- I. Schabbel von der Oberfläche der Hornschicht bei 9 Versuchspersonen.
- II. Kopfschuppen von 10 Versuchspersonen.
- III. Kopfhare von 12 Versuchspersonen, bei denen angeblich (bei einigen mit Sicherheit) keine anderen Maßnahmen als die üblichen Waschungen mit Shampoo vorgenommen wurden.
- IV. Fingernägel von Versuchspersonen, bei denen die Nägel nicht kosmetisch behandelt waren und
- V. 1 Versuchsperson, bei der die Nägel lackiert wurden.

B: Von Psoriatikern.

- I. Von Effloreszenzen abgeschabte Schuppen von 25 Herden.
- II. Kopfschuppen bei 3 Versuchspersonen.
- III. Haare ohne kosmetische Behandlung bei 3 Versuchspersonen.

C: Von Hautkranken mit anderen Hautveränderungen.

(Mykose, aktinische Keratose, Parapsoriasis en plaques, Pityriasis versicolor, Neurodermitis, Kontaktdermatitis, Arzneimittelexanthem, Erythrodermie, Seborrhoische Dermatitis, Parapsoriasis lichenoides acuta).

- I. Schuppen von Effloreszenzen von 17 Versuchspersonen.
- II. Kopfschuppen von 6 Versuchspersonen.
- III. Haare mit kosmetischer Behandlung von 3 Versuchspersonen.

D: Komedonen.

- I. Bei 7 Versuchspersonen ohne Akne vulgaris.
- II. Bei 36 Versuchspersonen mit Akne vulgaris.
- III. Bei 1 Versuchsperson mit Bindegewebsdegeneration und Komedonen.

ERGEBNISSE :

Nach der Inkubation trat

- I. oft eine Entfärbung der photographischen Platte in dem Bereich auf, in dem das zu untersuchende Material Kontakt mit dem Gelatinefilm gehabt hatte, außerdem setzt sich
- II. die Entfärbung häufig in der Umgebung kontinuierlich fort, ferner wurde
- III. offensichtlich Material mit entfärbender Wirkung noch in weitem Abstand von dem getesteten Material wirksam.

Im besonderen kam es am Rande des Deckglases vielfach zu einer deutlichen Entfärbung der Platte, jedoch nur in Ausnahmefällen zu einer vollständigen Entfärbung, wie es streckenweise unter dem inkubierten Material der Fall war.

Unter Hautschnitten war es daher nur selten möglich, die Entfärbung mit bestimmten Hautstrukturen zu koordinieren.

Es werden nun die Ergebnisse im einzelnen entsprechend der Aufteilung des Materials mit den dort verwendeten Buchstaben und Ziffern besprochen.

- A I: Schabsei von der gesunden Hautoberfläche entfärbten die Platte bei normaler Phosphatpufferinkubation 6-mal nicht, 3-mal schwach.
- Trasylol hatte keinen sicheren Einfluß, vorausgehendes Erhitzen schwächte die Entfärbung deutlich ab.
- A II: Die Kopfschuppen gesunder Versuchspersonen führten dagegen meist zu einer deutlichen Entfärbung der Platte. Bei 10 Versuchspersonen hatten nur 2 Schuppen, welche bei Phosphatpufferinkubation die Platte nicht entfärbten. Vorausgehendes Erhitzen verhindert die Entfärbung. Der Einfluß des Trasylols war unterschiedlich. Bei 6 Versuchspersonen war die Platte unter dem Einfluß von Trasylol weniger entfärbt, 4-mal dagegen stärker.
- A III: Bei den insgesamt 12 Versuchspersonen waren bei 36 Versuchen die inkubierten Haare immer in der Lage, die Platte zu entfärben. Im Bereich des Haarkolbens war die Platte wesentlich stärker entfärbt als im Bereich des übrigen Haares. In einzelnen Fällen setzte sich die Entfärbung ganz eigenartigerweise in die Umgebung fort. Diese Entfärbung wirkte wie weiße Fähnchen, die an einem Fahnenmast aufgehängt sind.

Graue und schwarze Haare von einer Versuchsperson verhielten sich unterschiedlich. Die grauen Haare entfärbten die Platte stärker.

Vorhergehendes Erhitzen der Haare führte zu einer geringeren Entfärbung der Platte, jedoch war die entfärbende Wirkung der Haare nie aufgehoben.

Trasylol hatte keine Wirkung.

A IV :Fingernagelmateriale entfärbte bei 3 Versuchspersonen bei normaler Phosphatpufferinkubation 2-mal, 1-mal nicht.

Bei dem erhitzten Fingernagelmateriale blieb dagegen die Schwärzung der Platte 2-mal erhalten und nur 1-mal entfärbte sich die Platte.

Trasylol hatte keinen Einfluß.

A V : Eigenartigerweise entfärbte das mit Nagellack behandelte Material die Platte in allen drei Versuchsanordnungen nicht.

B I : Schuppen von psoriatischen Läsionen entfärbten die Platte sehr stark.

Nur 1-mal war die psoriatische Schuppe ohne entfärbende Wirkung, 2-mal war die Platte nur schwach entfärbt. Bei allen 25 Versuchspersonen trat eine Entfärbung ein, auch bei dem Material, das vorher erhitzt wurde. Eine geringe Abschwächung der entfärbenden Wirkung war in einem Teil der Fälle zu beobachten.

Trasylol hatte keinen sicheren Effekt.

B II : Die Kopfschuppen von Psoriatikern zeigten im Vergleich zu denen von hautgesunden Versuchspersonen eine stärkere Entfärbung der Platte.

B III : Die Haare von Psoriatikern verhielten sich nicht anders als die von Hautgesunden.

B IV : Psoriatisch veränderte Nägel zeigten nach der normalen Inkubation eine schwache, nach vorherigem Erhitzen eine sehr deutliche und nach Inkubation eine deutliche Entfärbung der Platte.

C I : Die Schuppen von anderen untersuchten Dermatosen entfärbten die Platte stärker als das von Hautgesunden abgeschabte Material, aber schwächer als die Schuppen der Psoriatiker.

C II : Die Kopfschuppen von diesem Personenkreis entsprachen in ihrem Verhalten etwa dem von normalen Versuchspersonen.

C III : Auch die Haare verhielten sich entsprechend denen normaler Versuchspersonen.

C IV : Nagelmaterial wurde nicht untersucht.

D : Komedonen :

Die Komedonen unterschiedlicher Herkunft verhielten sich gleich. Sie zeigten eine umschriebene Entfärbung in ihrem Zentrum bzw. an ihrem unteren Pol. Mit Hilfe der Schnittfärbungen ließ sich nachweisen, daß in diesem Bereich ein doppelbrechendes Material vorhanden und in der Art von Talgdrüsenläppchen angeordnet ist.

Am Rand dieser Läppchen befinden sich mit Toluidin dunkel angefärbte Strukturen, ähnlich Zellkernen. Das Material färbte sich mit Sudan-schwarz am Rande stärker als im Zentrum an.

Die Läppchen waren durch ein Material unterteilt und insgesamt eingeschlossen, das sich mit Toluidin blau anfärbte und im polarisierten Licht deutlich schwächer doppelbrechend war als das eingeschlossene Material.

Eine Bewertung der inkubierten Schnitte scheint uns nicht möglich.

Offenbar kam es in manchen Fällen in der Nähe der Hornschicht zu einer Entfärbung der Platte.

Zuweilen war eine starke Entfärbung der Platte außerhalb des inkubierten Schnittes bzw. Materials, aber immer innerhalb des mit dem Deckglas abgedeckten Bereiches aufzufinden.

Eine sichere Übereinstimmung zwischen einer morphologischen Struktur und der Entfärbung der Platte fanden wir im Bereich der Kruste aus Makrophagen und segmentkernigen Leukozyten auf einem Ulcus. Dagegen war eine deutliche Übereinstimmung zwischen den morphologischen Strukturen in dem pflanzlichen Material und der Entfärbung der Platte festzustellen.

DISKUSSION :

Unsere Befunde zeigen, daß es zu drei verschiedenen Arten der Entfärbung kommen kann :

I. Wird die Platte unter dem aufliegenden Material entfärbt;

- II. wird die Platte in der unmittelbaren Nachbarschaft des inkubierten Materials entfärbt;
- III. kommt es zu einer, wenn auch meist geringen Entfärbung im weiten Abstand von dem inkubierten Material;
- IV. kann jede Entfärbung ausbleiben.

Zuweilen ist nur eine Reaktion gemäß I und zuweilen nur die Reaktion gemäß III vorhanden.

Demnach ist die entfärbende Wirkung offenbar an Stoffe gebunden, die in dem inkubierten Material relativ fest fixiert sind und an andere, die sich mehr oder weniger leicht aus dem Material extrahieren lassen. Die Befunde lassen sich nur schwer deuten. Wir sind nicht sicher, ob es nicht außer durch proteolytische Aktivität (p. Akt.) zur Entfärbung der Gelatineschicht der photographischen Platte kommen kann, evtl. durch Wirkung von Keratin auf das Silber. Die Tatsache, daß die Entfärbung der Platte nach Erhitzen der Haare schwächer ist, beweist nicht notwendig eine p. Akt. der Haare, denn durch das Erhitzen wird bekanntlich auch die Struktur des Keratins verändert. Andererseits war bei Untersuchungen mit der A.-färbstoffkuppungsreaktion der Verdacht auf eine p. Akt. in bestimmten Abschnitten des Haares, z.B. der inneren Wurzelscheide, wachgeworden. Für eine p. Akt. spricht, daß offenbar Material mit entfärbender Wirkung aus dem Haar ausgeschwemmt wird, und zwar nicht gleichmäßig nach allen Seiten, sondern nur nach einer Seite hin.

Frühere Untersuchungen, im besonderen mittels Inkubation der Hautoberfläche, hatten keinen Hinweis darauf gegeben, daß der Talg eine p. Akt. aufweist. Doch war aus den Schnitten das Fett und damit auch der Talg zum größten Teil extrahiert worden. Es ist also möglich, daß die Träger der p. Akt. mit dem Talg extrahiert wurden.

Befunde nach Gelatine-Inkubation von Schnitten lassen den Verdacht aufkommen, daß bestimmte Talgdrüsen die Gelatineschicht der photographischen Platte entfärben.

Auffällig ist die starke Entfärbung der Platte durch psoriatische Schuppen, die sich auch nicht durch Hitzeanwendung gemäß unserer Methodik aufheben läßt. Diese Befunde stützen die Interpretation unserer früheren Untersuchungen, daß die p. Akt. in der psoriatischen Schuppe erhöht ist.

Auffallend sind die Ergebnisse in den Komedonen. Die morphologische Struktur der Längsschnitte legt es nahe, daß die Komedonen von Keratin eingeschlossene Talgdrüsenläppchen darstellen.

Unter der Voraussetzung, daß diese Interpretation richtig ist und daß die Entfärbung der Platte auf p. Akt. beruht, besäße in diesem Fall das stark fetthaltige Material, wahrscheinlich ein pathologisch modifizierter Talg, eine deutliche p. Akt..

Die Pathogenese des Komedos rückt durch unsere Befunde in ein neues Licht. Die Talgdrüsenzellen würden statt völlig "zu vertalgen" in ihren äußeren Hüllen verhornen, wodurch der Talgabfluß blockiert wird. Dieser Befund hilft uns allerdings bei der Aufklärung der Ätiologie der Akne vulgaris nicht weiter, denn er findet sich auch bei Komedonen außerhalb des Formenkreises der Akne.

Auch die starke p. Akt. in der Psoriasisschuppe möchten wir eher als Folgeerscheinung, denn als etiologisch wesentlichen Vorgang betrachten. Neuere Befunde weisen darauf hin, daß die cutanen Vorgänge den epidermalen vorausgehen (6, 12). Auch nach Abheilen der epidermalen Veränderungen unter lokaler Steroidanwendung bleiben die cutanen bestehen (3).

ZUSAMMENFASSUNG :

Es wurde Hornmaterial verschiedener Herkunft unter normalen und pathologischen Bedingungen auf das Vorliegen und den Grad proteolytischer Aktivität nach dem Verfahren von Adams und Tuquan (2) untersucht, d.h. die Fähigkeit des untersuchten Materials, Gelatine zu verdauen.

Unter der Voraussetzung, daß mit der genannten Reaktion ausschließlich proteolytische Aktivität erfaßt wird, sind psoriatische Schuppen bes. aktiv, ferner normale Haare und Nägel. Im Zentrum von Comedonen findet sich eine Aktivität ebendort, wo doppelbrechendes Fett von Hornmaterial eingeschlossen ist. Offenbar handelt es sich um degenerierte Talgdrüsenläppchen, die in dem Hornmaterial eingeschlossen sind.



Abb. 1. Gelatinefilm nach der Inkubation von normalem Haar : Im Bereich des Haares und der Haarwurzel völlige Entfärbung des Films auf der photographischen Platte. Beachte die Entfärbung in der Umgebung, wahrscheinlich durch Ausschwemmung von Material aus dem Haar (Vergr. ca 30 x, ♀ 28 J.).

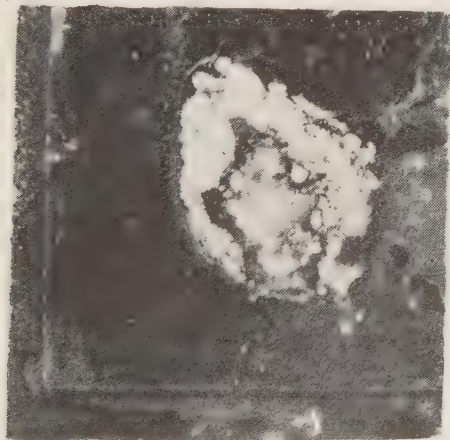


Abb. 2. Verhalten des Films unter psoriatischer Schuppe (Vergrößerte makroskopische Aufnahme der Platte).

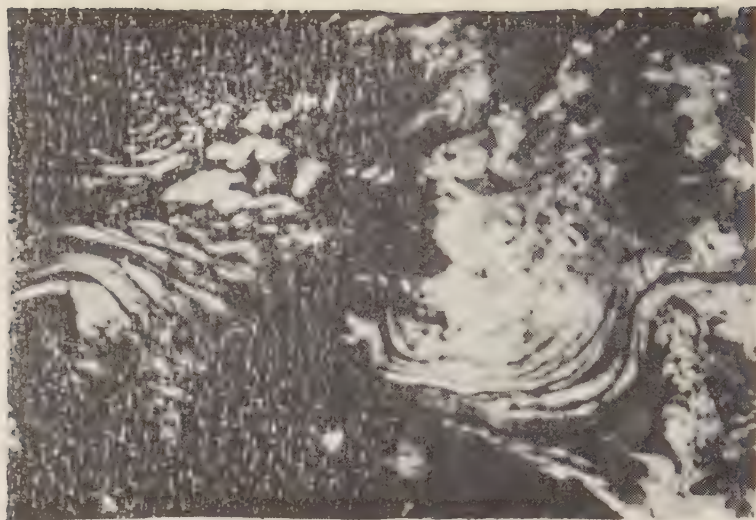


Abb. 3. Der Effekt von pflanzlichem Material (Kohlrabischeibe) auf den Gelatinefilm. Entfärbung entspricht der strukturellen Anordnung (Vergr. ca. 30 x).



Abb. 4. Längsschnitt durch einen Komedo bei Akne vulgaris im polarisierten Licht. Im Zentrum und am unteren Pol des Komedos doppelbrechende Fette in Läppchen-artiger Anordnung (Vergr. ca. 25 x, ♀ 16 J., Rücken).

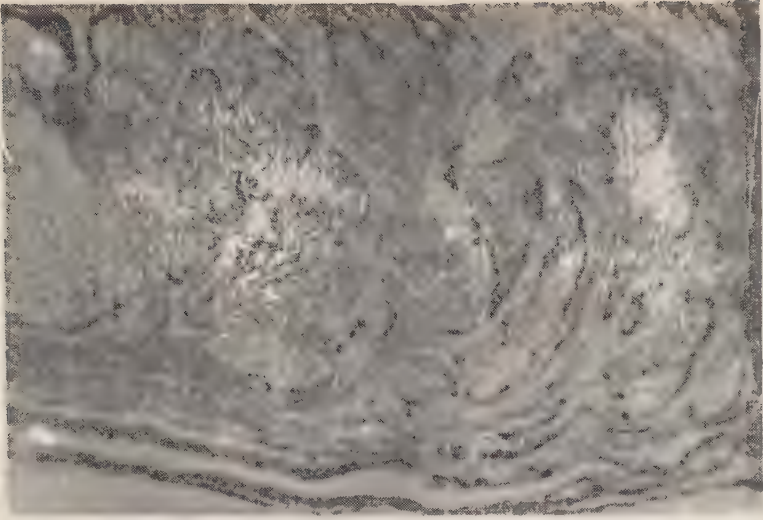


Abb. 5. Entsprechender Schnitt bei ca. 200-facher Vergrößerung, mit Toluidinblau (pH 7,0) gefärbt. Stark gefärbtes Material am Rande der Läppchen in kern-artiger Figurierung. Man erkennt deutlich die einschließenden Keratinlamellen.



Abb. 6. Der gleiche Schnitt in polarisiertem Licht. Man erkennt die starke Brechung durch das Fettmaterial und die schwache durch die einschließenden Hornlagen

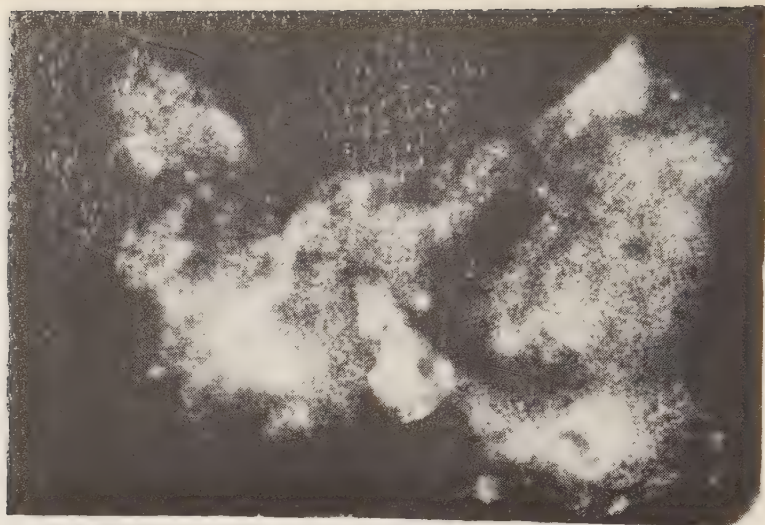


Abb. 7. Wirkung eines Komedos bei Akne vulgaris (ungeschnitten) auf den geschwärzten Film einer photographischen Platte. (Vergr. ca. 100 x, ♂ 19 J., Rücken).

Schrifttumsverzeichnis :

1. Adams C. W. M., and G. G. Glenner : Histochemistry of myelin.
IV. Aminopeptidase activity in CNS and PNS.
J. Neurochem. 9, 233-239 (1962).
2. Adams C. W. M., and N. A. Tuquan : The histochemical demonstration of proteases by a gelatine-silver film substrate.
J. Histochem. Cytochem. 9, 473-476 (1961).
3. Freedman, R. I., W. B. Reed, and S. W. Becher : Effect of local corticosteroids on psoriasis.
Arch. Derm. (Chikago) 87, 696-700 (1962).
4. Hasegawa, J.: The Hydrolysis of L-Leucyl- β -Naphthylamide by a Previously Undescribed Enzyme in Wheat.
J. Histochem. Cytochem., II, 474- (1962).
5. Hasegawa, J. and A. Siegel : Hydrolysis of L-Leucyl- β -Naphthylamide by chymotrypsin.
J. Histochem. Cytochem., 10, 766 (1962).
6. Herrmann, F., Steigleder, G. K. und H. Kim : Aminopeptidasenaktivität in der psoriatischen Papel. Der psoriatische Hof.
Mitteilung I. Dermat. Wschr. 146, 603-609 (1962).
7. Klaschka, F.: Experimentelle und klinische Untersuchungen zur Wirksamkeit des Kallikrein-Trypsininhibitors (Trasyol (R)) bei Dermatosen.
Arch. klin. exp. Derm. 217, 71-81 (1963).
8. O'Connell, W. and R. J. Winzler : Studies on a enzyme in human serum which hydrolyses leucyl- β -naphthylamide.
Cancer Res. 23, 78-83 (1963).
9. Romeis, B.: Mikroskopische Technik.
München, Oldenburg 1948.
10. Steigleder, G. K., Y. Kamie und R. Kudicke : Die Lokalisation von proteolytischer Aktivität in entzündlich veränderter Haut.
Arch. klin. exp. Derm. im Druck.
11. Steigleder, G. K. und E. Endres : Zur Biochemie der krankhaften Verhornung im besonderen bei Psoriasis : proteolytische Aktivität auf der pathologisch veränderten Haut.
In Vorbereitung.
12. Steigleder, G. K., H. Nicklas und Y. Kamei : Die Epithelveränderungen beim Histiocytom, ihre Genese und ihr Erscheinungsbild.
Derm. Wschr. 146, 457-468 (1962).

13. Stüttgen, G. und H. Thiel : Quantitative Messungen des tryptischen Abbaus der Milchsäuredehydrogenase im menschlichen Serum, in Hautblasenflüssigkeit und im Sperma. Ein Beitrag zur Frage des Trypsininhibitors. Arch. klin. exp. Derm. 216, 287-298 (1963).
14. Sylven, B. and J. Bois : Studies on the histochemical "leucine aminopeptidase" reaction,
I. Identity of the enzyme positively involved. Histchem. 3, 65-78 (1962).

An dieser Stelle möchte ich Herrn Professor
Dr. G.K. Steigleder für die Überlassung des
Themas und die freundliche Unterstützung
bei der Arbeit danken.

Fräulein Marlene Motz danke ich für das
Schneiden der Komedonen auf dem
Kryostaten.

Lebenslauf:

Am 12. Oktober 1938 wurde ich als drittes von fünf Kindern des Landwirtes Arthur Blomeyer und seiner Ehefrau Christa Blomeyer, geborene Buchsteiner, in Kukehnen Kreis Bartenstein/Ostpr. geboren.

Im Mai 1956 legte ich an der IV. Oberschule in Cottbus die Reifeprüfung ab.

Da ich die Zulassung zum Studium in der DDR nicht erhielt, machte ich im März 1957 an der Jugenddorf-Christophorus-Schule in Oberurff die Ergänzungsprüfung, um die Berechtigung zum Studium in der Bundesrepublik zu erlangen.

Danach ging ich für 8 Monate nach England und begann im Sommer-Semester 1958 mit dem Sprachstudium in Heidelberg.

Nach einem Semester wechselte ich auf das Studium der Zahnheilkunde, welches ich an den Universitäten Marburg, Berlin, Kiel, Freiburg und Frankfurt absolvierte.

Ursula Blomeyer

Meine akademischen Lehrer waren :

Herr Prof. Steigleder

Herr Prof. v. Reckow

Herr Prof. Kuck

Herr Prof. Zimmermann

Herr Prof. Hauser

Herr Prof. Niessing

Herr Prof. Kirsten

Herr Prof. Schütte

Herr Prof. v. Herrath

Herr Prof. Spreter v. Kredenstein

Herr Prof. Mollowitz

Herr Prof. Uhlig

Herr Prof. Rehm

Herr Prof. Eschler

Herr Prof. Grundmann

Herr Prof. Kleinschmidt

Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die der Medizinischen Fakultät Frankfurt/Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel:

Die proteolytische Aktivität von normalem und pathologischem Hornmaterial, im besonderen der psoriatischen Schuppen und des Komodos bei Akne vulgaris

in der Universitäts-Hautklinik Frankfurt/Main unter Leitung von Herrn Prof. Dr. med. Steigleder

ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Frankfurt a. M., den 1.10.1963

Ursula Blomeyer

